Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 14, No. 2, June. July. 2018, p. 371- 382

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 14، شماره 2، خرداد- تیر 1397، ص 382 -371

اثرات فیلم کامپوزیتی خوراکی نشاسته- کیتوزان حاوی ترکیب عصاره پوست انار و اسانس روغنی کاکوتی بر ماندگاری گوشت قرمز در زمان نگهداری

تورج مهدیزاده[1]*- حسین تاجیک[2]- علی مجدر لنگرودی[3]

تاریخ دریافت: 1395/09/25
تاریخ پذیرش: 1396/02/30

چکیده

هدف از این تحقیق وارد نمودن دو ماده با خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی مناسب در قالب فیلم کامپوزیتی نشاسته– کیتوزان و ارزیابی اثرات آن بر ماندگاری گوشت قرمز می‌باشد. بعد از تهیه اسانس روغنی و عصاره، فیلم کامپوزیتی به روش کستینگ تهیه گردید. نمونه مدل غذایی (گوشت) با فیلم تهیه شده پوشش داده شد و اثرات آن شامل تغییرات جمعیت باکتری‌های مزوفیل هوازی، اسید لاکتیک و سودوموناس، تغییرات شیمیایی شامل pH و اکسیداسیون چربی و نیز خصوصیات حسی در طول نگهداری 21 روز بررسی گردید. نتایج نشان داد که در پایان 21 روز در جمعیت باکتری‌های مزوفیل هوازی 7/11 سیکل لگاریتمی کاهش در مقایسه با گروه بدون پوشش مشاهده شد. در جمعیت باکتری‌های اسید لاکتیک نیز بهترین اثر مربوط به فیلم حاوی اسانس2 درصد و عصاره نیم‌درصد بود که نسبت به گروه کنترل 3/29 سیکل لگاریتمی اختلاف داشت. از طرفی در نمونه پوشش داده شده توسط فیلم حاوی 2 درصد اسانس و 1 درصد عصاره در پایان روز 21 ام، 6/92 سیکل لگاریتمی کاهش در جمعیت باکتری سودوموناس در مقایسه با گروه کنترل بدون پوشش مشاهده شد. تیمارهای حاوی عصاره نیم و یک درصد بیشترین ممانعت را از تشکیل مالون آلدهید داشته و بیشترین میزان اکسیداسیون نیز در نمونه بدون پوشش و کنترل بدون عصاره مشاهده گردید. در حالی که بقیه تیمارها به‌خصوص حاوی عصاره پوست انار، در طول نگهداری 22 روز از یک روند اکسیداسیون کند برخوردار بودند. این مطالعه نشان داد که فیلم کامپوزیتی حاوی عصاره و اسانس دارای خواص ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی بالایی بوده و با بهبود برخی ویژگی‌های فیزیکی فیلم می‌تواند برای بسته‌بندی و نیز افزایش عمر نگهداری گوشت مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: فیلم کامپوزیتی، نشاسته- کیتوزان، اسانس روغنی کاکوتی، پوست انار، گوشت قرمز

مقدمه

در دهه اخیرگرایش مصرف‌کنندگان به محصولات غذایی با کیفیت بهتر، تازه‌تر و نیز با دسترسی آسان‌تر رو به فزونی نهاده است. رشد میکروبی و نیز تغییرات اکسیداتیو و شیمیایی مهم‌ترین عوامل کاهش‌دهنده کیفیت فرآورده‌های غذایی در طی نگهداری می‌باشند (Thakur & Singh, 1994). مهمترین روش مورد استفاده برای مقابله با عوامل فساد و بیماریزا در مواد غذایی استفاده از نگهدارنده‌های شیمیایی می‌باشد. با وجود چندین نوع مواد ضدمیکروبی تایید شده و تجاری، استفاده از آنها با محدودیتهایی مواجه است. به‌طوری که در حال حاضر احتمال داده می‌شود که برخی سرطان‌ها ممکن است با نگهدارنده‌های شیمیایی و باقیمانده‌های سمی آنها در ارتباط باشند. همه این موارد باعث شده که آگاهی مصرف کنندگان و تقاضای آنها به غذاهای نگهداری شده با مواد طبیعی افزایش یابد و محققین به دنبال یافتن ترکیبات و روش‌های نگهدارنده طبیعی و غیرشیمیایی نوین در مواد غذایی باشند (Schuenzel& Harrison, 2002). یکی از گروه‌های مواد ضدمیکروبی طبیعی گیاهان دارویی، اسانس‌های روغنی و نیز عصاره‌های گیاهی می‌باشند. این ترکیبات علاوه بر اینکه بی‌ضرر شناخته می‌شوند طیف وسیعی از اثرات ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی را در تحقیقات مختلف نشان داده اند (Kalemba&kunicka, 2003). بنابراین استفاده از این مواد سالم و بی‌خطر می‌تواند به‌عنوان یک روش جایگزین برای کنترل عوامل بیماری‌زا و فسادزا و افزایش عمر نگهداری مواد غذایی کاربرد داشته باشد (Thangavelu *et al*., 2004). استفاده مستقیم این ترکیبات در خود مواد غذایی با محدودیت‌هایی مواجه است بنابراین محققین به دنبال روش‌های بهبود فعالیت آنها می‌باشند. یکی از روش‌های استفاده از این مواد طبیعی در بسته‌بندی و پوشش مواد غذایی تحت عنوان بسته‌بندی

1، 2 و 3- به‌ترتیب استادیار، استاد و دانشجوی دکتری، گروه بهداشت و مواد غذایی، دانشگاه ارومیه، ایران.
(*مسئول مکاتبات: Email: Tooraj.mehdizadeh@yahoo.com)
DOI: 10.22067/ifstrj.v0i0.61062

فعال می‌باشد. این پوشش‌های زیست سازگار بر پایه فیلم‌های خوراکی، که عمدتاً از پلی‌ساکاریدها، پروتئین‌ها، چربی‌ها و یا ترکیبی از آنها ساخته می‌شوند، به دلیل دارا بودن مواد طبیعی، قابلیت تجدید پذیری و عدم ایجاد آلودگی‌های زیست محیطی، روز به روز از اهمیت خاصی برخوردار می‌شوند (Ahvenainen; 2003). مزیت استفاده از مواد فعال در پوشش به‌جای خود ماده غذایی این است که اولا در حین فرآوری ماده غذایی تغییری در ترکیبات ضدمیکروبی ایجاد نمی‌شود و ثانیاً با توجه به انتشار آهسته و تدریجی مواد فعال از پوشش به داخل ماده غذایی در طول زمان میزان مواد فوق ثابت می‌مانند که در نتیجه به افزایش اثر و کارایی این مواد به دلیل عدم غیرفعال شدن توسط ترکیبات مختلف ماده غذایی منجر می‌شود (Ozdemir&Floros, 2004).

کیتوزان به‌عنوان یک پلیمر زیستی و پلی‌ساکارید پلی‌کاتیونی، از استیل‌زدایی کیتین (دومین پلی‌ساکارید فراوان در طبیعت) ساخته می‌شود. این پلی‌ساکارید زیست تخریب‌پذیر علاوه بر غیرسمی بودن دارای خصوصیات منحصر بفردی از جمله ضدمیکروب، آنتی‌اکسیدان و تشکیل‌دهنده فیلم بوده و منشاء تحقیقات بسیاری در زمینه فیلم‌های فعال و ضدمیکروبی بوده است (Rinaudo, 2006). نشاسته نیز یک پلی‌ساکارید تجزیه‌پذیر و قابل حل در آب با قابلتی تشکیل فیلم است. بسته بندی‌های ساخته شده بر پایه نشاسته علاوه بر ارزان بودن با توجه به منشاء طبیعی آن، از دسترسی آسان در مقیاس وسیع نیز برخوردار می‌باشند.

انار[1] که در جهان به‌عنوان بومی ایران شناخته می‌شود منبع مهمی از ترکیبات فعال زیستی بوده و با داشتن ترکیبات پکتین، آسکوربیک اسید، تانن‌ها، آنتوسیانین‌ها و فلاوونوئیدها اثرات آنتی‌اکسیدانی بالایی را نشان داده است (Martos *et al*., 2010). در این میان عصاره پوست انار مشخصاً دارای قابلیت و ظرفیت مهار یا ممانعت بیشتری در مقابل آنیون‌های سوپراکسید، رادیکالهای هیدروکسیل و پروکسیل است (Li *et al*., 2006). تحقیقات انجام گرفته نشان داده است که عصاره پوست انار دارای خواص ضدباکتریایی، ضدویروسی (Al-Zoreky, 2009)، ضدجهش‌زایی (Lansky & Newman, 2007) و آنتی‌اکسیدانی (Singh، 2002) بوده و می‌تواند به‌عنوان ترکیب نگهدارنده طبیعی در صنایع غذایی و داروها مورد استفاده قرار گیرد. اسانس روغنی آویشن کوهی یا کاکوتی[2] به علت داشتن ترکیبات ضدمیکروبی و فنولی مانند تیمول و کارواکرول پتانسیل بالایی را جهت کاربرد در صنایع گوشت دارد (Solomakos *et al*., 2008) و مطالعات متعددی در این مورد انجام یافته است. ازنظرکمیت و کیفیت اسانس، تیمول، پاراسایمن، کارواکرول، آلفاپینن، کامفن، ترپینن، گاماترپینن، شناسایی شده‌اند و لیتیمول و کارواکرول مهمترین مواد موثر دارویی درگیاه آویشن کوهی می‌باشند. در مطالعه مرندی و همکاران (2011) بر روی اثرات ضد قارچی اسانس روغنی کاکوتی بر روی *بوتریتیس سینرا* و *پنی سیلیوم اکپانسوم* نشان داد که اسانس روغنی کاکوتی دارای اثرات ضدقارچی بالایی بوده به‌طوریکه در غلظت 200 میکرولیتر به ازای لیتر رشد قارچها متوقف شد و همچنین نمونه‌های گلابی به‌عنوان نمونه مدل غذایی نیز از اثرات قارچها در امان ماندند. در مطالعه دیگر مهربان سنگ آتش و همکاران (1385) اثرات اسانس روغنی کاکوتی بر روی باکتری‌های مولد فساد و بیماری‌زا را بررسی نمودند و نتایج نشان داد که رشد همه باکتری‌های مورد مطالعه به غیر از *سودوموناس آئروژینوزا* و *شیگلا دیسنتری* متوقف شد، به‌طوریکه حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی برای باکتری‌های *انتروباکتر آئروژنز*، *اشریشیاکلی*، *کلبسیلا نومونیا* و *سالمونلا انتریتیدیس* به‌ترتیب ۱۲۵، ۵۰۰، ۲۵۰ و 250 میکروگرم بر لیتر بود، و برای باکتری‌های گرم مثبت *لیستریا مونوسیتوژنز* و *استافیلوکوکوس اورئوس* 125 میکرو گرم بر لیتر و برای *باسیلوس سرئوس* 1000 میکروگرم بر لیتر بر حسب غلظت اسانس روغنی بود. در مطالعه‌ایی هم که توسط امیری (2012) انجام گرفت اثرات آنتی‌اکسیدانی اسانس روغنی کاکوتی با دو روش به دام‌اندازی رادیکال دی فنیل پیکریک هیدرازیل و بتاکاروتن، لینولئیک اسید سیستم مورد ارزیابی قرار گرفت و نتایج نشان داد که اسانس روغنی کاکوتی دارای IC50 برابر با 278 میکروگرم بر میلی‌لیتر بوده و همچنین تا حدود 69/2 درصد قادر به مهار در تست بتاکاروتن و لینولئیک اسید می‌باشد، که این مقادیر برای بوتیل هیدروکسی تولوئن به‌ترتیب برابر با 18/2 و 96/4 می‌باشد.

فیلم‌های کامپوزیتی یا مرکب می‌توانند شامل مخلوطی از فیلم‌های پلی‌ساکاریدی- پروتئینی و لیپیدی باشند. به‌منظور علیه بر تاثیر منفی یکی از ترکیبات مذکور و یا بهره‌مندی از ویژگی‌های کاربردی هر یک از آن‌ها از فیلم‌های مرکب یا چند ترکیبی استفاده می شود. فیلم‌های مرکب همانند سایر فیلم‌های مذکور دارای ویژگی ممانعت در برابر عبور رطوبت- گاز و مواد حل شده می‌باشند.

اضافه نمودن مستقیم افزودنی‌های ضدمیکروبی در بسته‌بندی یکی از روش‌های مرسوم بسته‌بندی ضدمیکروبی می‌باشد. چندین نوع ترکیب جهت ایجاد اثرات ضدمیکروبی برای این منظور مورد آزمایش قرار گرفته اند (Dobias *et al*., 2000; Ouattara *et al*., 2000b; Vermeiren *et al*). در این روش به‌جای استفاده از ترکیب ضدمیکروبی به‌طور مستقیم، ماده ضدمیکروبی وارد پوشش بسته‌بندی شده در نتیجه امکان غیرفعال شدن آن توسط عوامل موجود درماده غذایی کاهش یافته و در ضمن مدت طولانی‌تری اثر خود را نشان می‌دهد. به‌عنوان مثال نشان داده شده که ترکیبات سوربات در صورت وارد شدن به فیلم‌های بسته‌بندی مدت زمان بیشتری اثر خود را حفظ می‌کنند (Coma, 2008). در این بین عصاره‌های گیاهی نیز توسط

1 *Punica granatum*
2 *Thymus kotschyanus*

محققین مختلف به منظور اثرات ضدمیکروبی در بسته بندی‌های ضدمیکروبی مورد استفاده قرار گرفته اند. این ترکیبات به علت بی‌ضرر و نیز طبیعی بودن اهمیت ویژه‌ای دارند (Rodrigues and Han, 2000; Coma *et al*., 2001; Ha *et al*., 2001; Suppakul *et al*., 2002).

همچنین خواص ضدمیکروبی اسانس روغنی آویشن در ترکیب با فیلم خوراکی در چند تحقیق بررسی گردیده است. ولی هیچ نوع بررسی در ارتباط با ترکیب این اسانس با عصاره پوست انار در قالب فیلم‌های کامپوزیتی وجود ندارد.

در مطالعه حاضر هدف این است که ضمن تهیه فیلم کمپوزیتی نشاسته- کیتوزان با ترکیب دو ماده تشکیل دهنده فیلم، کارایی اثر ترکیبات ضدمیکروبی و آنتی اکسیدانی اسانس روغنی کاکوتی و نیز عصاره پوست انار در ترکیب با هم بر ماندگاری گوشت قرمز نگهداری شده در یخچال سنجیده و گزارش گردد.

مواد و روش‌ها

تهیه و آماده‌سازی عصاره پوست انار

برای این منظور پس از خریداری انارهای رسیده پوست به‌طور دستی جداسازی گردید و در هوای آزاد خشک گردید سپس توسط آسیاب به‌صورت پودر در آمده و از الک با قطر منافذ 60 مش عبور داده شد. سپس 250 گرم از پودر تهیه شده را با 700 میلی‌لیتر الکل و 300 میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط کرده و حدود 24 ساعت در دستگاه شیکر قرار داده شد. پس از عبور از کاغذ صافی، مخلوط به روتاری (150 Rpm) در حرارت 45°C به مدت 24 ساعت منتقل گردید تا عصاره تهیه گردد (Fatehi-Hassanabad *et al*., 2005).

تهیه و آماده‌سازی اسانس روغنی کاکوتی

گیاه کاکوتی از عمده فروشی‌های شهرستان ارومیه خریداری و به‌همراه آب مقطر در دستگاه کلونجر به مدت 3 ساعت قرار داده شد. اسانس تهیه شده ابتدا با سرنگ استریل و سپس با سدیم سولفات آبگیری گردید و پس از عبور از فیلترهای میلی پور 0/22 میکرون، در ظروف شیشه‌ایی ضدنور و سربسته تا زمان استفاده در یخچال نگهداری گردید (Hashemi *et al*., 2013).

تهیه فیلم کامپوزیتی نشاسته- کیتوزان

برای تهیه فیلم کامپوزیتی، پس از خریداری کیتوزان ساخت شرکت فلوکا با وزن مولکولی متوسط، به‌صورت دو درصد وزنی/ حجمی، در اسید استیک یک درصد حل شده و به مدت 6 ساعت در دمای 40 درجه سانتی‌گراد برروی هات پلیت آهن‌ربادار قرار داده شد. برای تهیه محلول نشاسته سوسپانسیون آبکی نشاسته ذرت با 27 درصد آمیلوز (سیگما- آلدریخ) به‌صورت 3/5 درصد وزنی/ وزنی با آب مقطر استریل تهیه شده و در 97 درجه سانتی‌گراد به مدت 30 دقیقه در حمام آبگرم ترمواستاتیک به‌طور اتوماتیک مرتباً همزده شد تا ژلاتینه گشته و سپس تا 50 درجه سانتی‌گراد خنک گردید (Xu *et al*., 2005). در مرحله بعدی بعد از افزودن پلاستی‌سایز گلیسرول به میزان 30 درصد وزنی/ وزنی به ازای ماده خشک تشکیل‌دهنده فیلم، محلول‌های کیتوزان و نشاسته به نسبت 50/50 بر روی همزن آهنربادار مخلوط شده و در نهایت عصاره انار با درصدهای 0/5، 1 و اسانس روغنی با درصدهای 1، 2 اضافه گردید و با هموژنیزاتور در دور12000 بمدت دو دقیقه همزده شد. لازم به ذکر است که به تیمارهای حاوی اسانس روغنی توئین 80 به‌عنوان امولسیفایر اضافه شد. برای تهیه فیلم به روش کستینگ بعد از خارج کردن حباب‌های هوای داخل آن در شرایط خلاء و همچنین با استفاده از گاز نیتروژن، محلول فیلم برروی قالب‌های تفلون نچسب و مقاوم به حرارت (پلی‌تترافلوروواتیلن) در شرایط کاملا مسطح ریخته شده و تا زمان خشک شدن دردمای اطاق قرار داده شدند. پس از خشک شدن کامل، فیلم‌ها از داخل قالب جدا شده، و در شرایط رطوبت ثابت 58 درصد و دمای 25 درجه سانتی‌گراد در داخل دسیکاتور حاوی محلول اشباع نمک بروميد سدیم به مدت 48 ساعت قبل از انجام آزمایش‌های مربوطه نگهداری گردیدند.

ارزیابی اثرات فیلم‌های منتخب بر مدت زمان ماندگاری گوشت تازه

شمارش کلی باکتریایی و عوامل فساد: گوشت تازه گاو به‌طور مستقیم، در روز آزمایش از کشتارگاه تهیه گردید و به قطعات 2/1 در 2/5 در 1 سانتی‌متر بریده شده و سپس در داخل پوشش صلیبی شکل تهیه شده ازتیمارهای مختلف فیلم قرار داده شد، به‌طوری که تمام سطح گوشت پوشانده شد. در کنار آن نمونه‌های بدون پوشش یا پوشش بدون مواد ضدمیکروبی نیز به‌عنوان کنترل قرار داده شد. سپس نمونه‌ها در داخل ظرف پلاستیکی استریل قرار داده شده و با پوشش پلاستیکی پوشانده شد و در انکوباتور دقیق دمای پائین (4 درجه سانتی‌گراد) قرار داده شد. همه نمونه‌ها در فواصل روزهای صفر،۲،۴، ۱۶،۱۲،۸ و 21 مورد ارزیابی میکروبیولوژیکی قرار گرفتند. بدین ترتیب که نمونه گوشت (5 گرم) با پوشش فیلم اطرافش به‌طور استریل برداشت شده و به 45 سی‌سی محلول رینگر یک چهارم افزوده شده و در استوماکر یکنواخت گردید سپس رقت‌های یک دهم با رینگر تهیه گشته و 0/1 سی‌سی از هر کدام بر روی محیط کشت پلیت کانت آگار جهت شمارش کلی منتقل و پخش شد و در 25 درجه سانتی‌گراد به‌مدت 72 ساعت انکوبه گردیدند. جهت شمارش باکتری‌های اسید لاکتیک نیز از محیط کشت دمان روگوزا و شرپ

آگار[1]، دمای انکوبه 30 درجه به مدت 96 ساعت، و برای شمارش باکتریهای سودوموناس از محیط کشت سودوموناس آگار حاوی ساپلمنت اختصاصی[2]و دمای انکوباسیون 25 درجه سانتی‌گراد، استفاده گردید (Zinoviadou *et al*, 2009).

تعیین pH

5 گرم نمونه گوشت در روزهای آزمون با 45 سی‌سی آب مقطر دیونیزه به مدت 1 دقیقه با سرعت 1000دور به دقیقه توسط هموژنایزر هموژنیزه شده و با دستگاه pHمتر در دمای اطاق اندازه‌گیری صورت گرفت (Brannan, 2008).

ارزیابی میزان اکسیداسیون به روش تیوباربیتوریک اسید (TBA)

مالون دی آلدهید عموماً در طی اکسیداسیون چربی‌ها ایجاد می‌شود. این ترکیب با 2- تیوبابیتوریک اسید ایجاد یک ترکیب قرمز رنگ می‌کندکه توسط اسپکتروفتومتر جذبی در 531 نانومتر قابل اندازه‌گیری است.10گرم نمونه گوشت با تری کلرواستیک اسید 10% مخلوط شده سپس به‌مدت 30 دقیقه با دور 2300 و دمای 5 درجه سانتریفوژ شد سپس بخش فوقانی از فیلتر کاغذی عبور داده شده و دو سیسی از آن مایع با 2 سی سی محلول تیوباربیتوریک اسید 2 میلی‌مول هموژنیزه گشته ودر 97 درجه به‌مدت 20 دقیقه انکوبه گردید و تا دمای اتاق سرد گردید و جذب آن در 531 نانومتر در مقایسه با محلول تنهای TBA خوانده شد .غلظت نمونه‌ها با رسم منحنی کالیبراسیون که بین دو مقدار 1 و 20 میلی‌مول را پوشش دهد محاسبه گردید. مقدار TBARS بر اساس میلی‌گرم از مالون دی‌آلدهید به ازای یک کیلوگرم نمونه گزارش گردید (Nerin *et al*, 2006).

ارزیابی‌های حسی

بر روی نمونه‌ای گوشت نگهداری شده در روزهای ذکر شده، توسط 6 نفر افراد پانل نیمه ماهر (بر اساس دستورالعمل انجمن گوشت آمریکا) که آموزش و راهنمایی‌های اولیه بر اساس روش کراس و همکاران (cross *et al*,1978) به آنها داده شده است، انجام پذیرفت (Djenane *et al*, 2003).

تجزیه و تحلیل‌های آماری داده‌ها

کلیه آزمایش‌ها حداقل در سه تکرار انجام گرفت. داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه و نرم‌افزار SPSS تجزیه و تحلیل شدند. آزمون آماری دانکن برای مقایسه اختلاف بین میانگین‌ها در سطح معنی‌داری 0/05 مورد استفاده قرار گرفت.

نتایج و بحث

شمارش جمعیت باکتری‌های مزوفیل هوازی (شکل 1) در نمونه گوشت در دمای 4 درجه سانتی‌گراد نشان داد که در بین فیلم‌های مختلف، بهترین اثر مربوط به فیلم اسانس2%+ عصاره 1% است به‌طوری که در پایان 21 روز در جمعیت باکتری‌های مزوفیل هوازی 7/11 سیکل لگاریتمی کاهش در مقایسه با گروه بدون پوشش مشاهده شد. ضمن اینکه تمامی تیمارهای حاوی اسانس و عصاره اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل بدون پوشش و فیلم خالی کامپوزیتی نشان دادند. ($p<0/05$).

شمارش جمعیت باکتری‌های اسید لاکتیک (شکل 2) در نمونه گوشت در دمای 4 درجه سانتی‌گراد نشان داد که فیلم‌های حاوی پوشش و عصاره نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی‌داری از نظر تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک دارند. در جمعیت باکتری‌های اسید لاکتیک، بهترین اثر مربوط به فیلم حاوی اسانس2%+ عصاره0/5% بود.

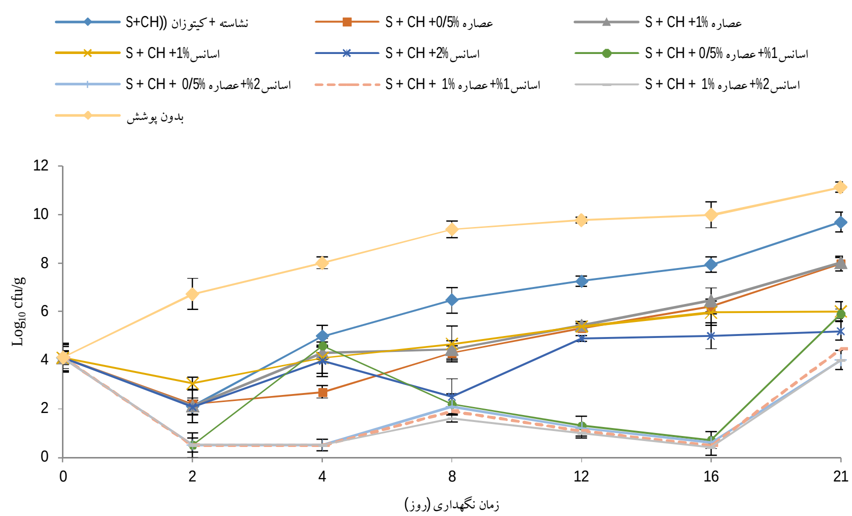
شمارش جمعیت باکتری سودوموناس (شکل 3) در نمونه گوشت در دمای 4 درجه سانتی‌گراد نشان داد که تیمارهای حاوی عصاره و اسانس نسبت به تیمار بدون پوشش و همچنین نسبت به تیمار فیلم بدون عصاره و اسانس به‌طور معناداری جلوی رشد باکتری سودوموناس را می‌گیرد.

افزایش عمر ماندگاری مواد غذایی به بهترین و بالاترین زمان لازم، مهمترین چالش تولیدکنندگان مواد غذایی است. دریک مطالعه، اثرات فیلم کامپوزیت ژلاتین- کیتوزان حاوی اسانس میخک بر روی عوامل مهم فسادزای ماهی در شرایط نگهداری سرد مورد بررسی قرار گرفت. استفاده از فیلم باعث کاهش معنی‌دار باکتری‌های فسادزای گرم منفی به‌خصوص آنتروباکتریاسه گردید. در حالی که روند رشد باکتری‌های اسید لاکتیک از یک سیر ثابت در طول نگهداری تبعیت نمودند (Gomez-Estaca *et al*., 2010). به‌طور کلی باکتری‌های اسید لاکتیک، یکی از مقاوم‌ترین باکتری‌ها به ترکیبات ضدمیکروبی به شمار می‌روند (Emiroglu *et al*., 2010). در مطالعه‌ای دیگر استفاده از غلظت 1/5 درصد اسانس پونه کوهی در فیلم پروتئین آب پنیر، موجب کاهش 3/3 سیکل لگاریتمی در میزان شمارش کلی باکتری‌ها در گوشت تازه گاو در دمای یخچال گردید و نیز موجب مهار کامل باکتریهای اسید لاکتیک گردید (Zinoviadou *et al*., 2009). در بررسی اسلاه و همکاران (2004) فیلم پروتئین شیر حاوی اسانس پونه کوهی و فلفل فرنگی شیرین در گوشت گاو مورد بررسی گرفت و باعث کاهش یک سیکل لگاریتمی در تعداد باکتری‌های

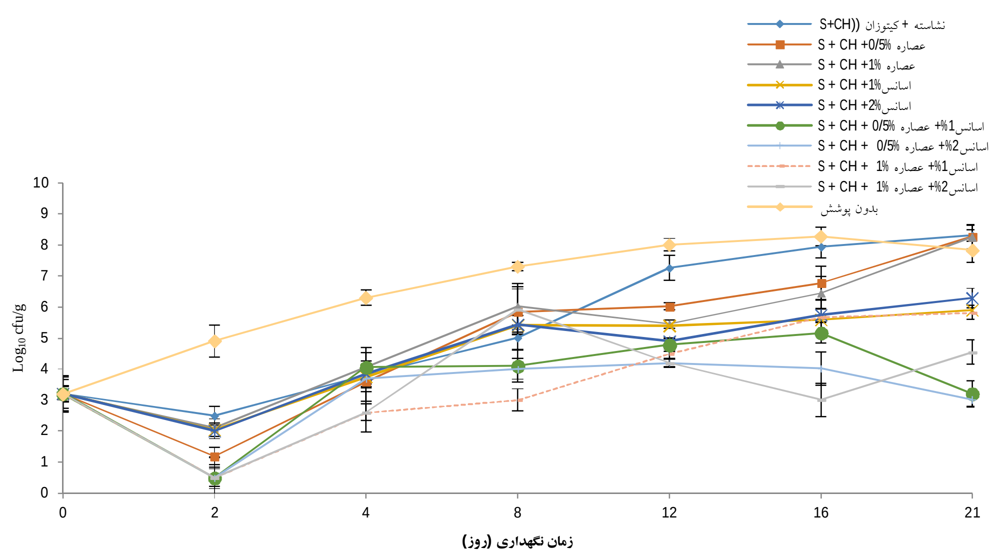
1 De Man, Rogosa and Sharpe (MRS) agar
2 Cetrimide-fucidin-cephaloridine (CFC)

سودوموناس و اشریشیا کلای O157:H7 گردید. یافته‌های آزمون pH مشابه نتایج مطالعه امیراوغلو و همکاران (2010) است که در استفاده از فیلم پروتئین سویا در پتی گاو به‌دست آمد.

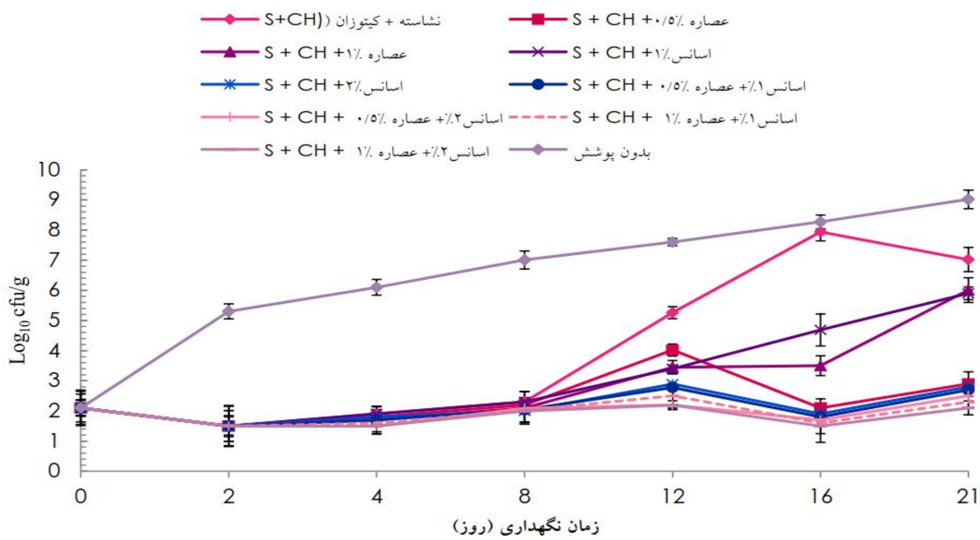
میزان pH فیلم کامپوزیتی حاوی اسانس کاکوتی و عصاره پوست انار در شکل 4 آمده است. نتایج تغییرات pH نشان داد که میزان pH نمونه‌های گوشت بدون پوشش در روز صفر 5/88 بود که با افزایش زمان نگهداری تا روز 12کاهش منظمی را نشان می‌دهد و از روز 12 به بعد روند افزایشی یافته و در روز 21 به 6/65 می‌رسد. و از روز 16 نیز دوباره روند افزایش pH شروع می‌گردد. در ضمن در بین تیمارهای مختلف و کنترل در روزهای مختلف اختلاف معنی‌دار وجود دارد. از روز 16 به بعد نیز به‌دلیل غالب شدن فلور فساد و فعل و انفعالات شیمیایی ناشی از فساد نمونه‌های گوشت pH رو به فزونی می‌گذارد. که این افزایش اختلاف معنی‌داری با نمونه کنترل و بدون پوشش دارد. مطالعه، ها و همکاران (2001)که با آزمون حاضر همخوانی دارد و از عصاره دانه گریپ فروت در بسته‌بندی پلی‌اتیلنی چند لایه استفاده کرده بودند نشان داد که در صورت استفاده از عصاره گریپ فروت pH نمونه گوشت بسته‌بندی شده تا روز 12 از یک سطح نسبتا پایداری برخوردار می‌باشد که نشان از رشد کم میکروبی در نمونه‌های حاوی عصاره می‌باشد.



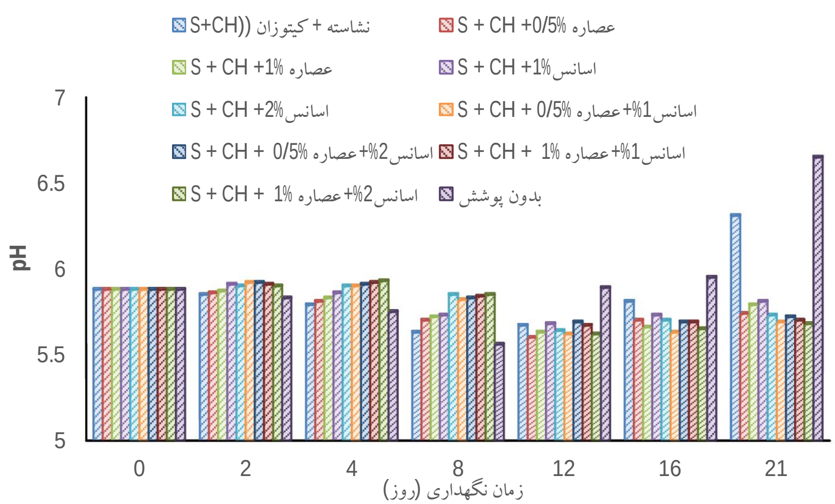
شکل 1- تغییرات جمعیت باکتریهای مزوفیل هوازی بر حسب (log10 CFU/g) در نمونه گوشت پوشش داده شده .



شکل 2- تغییرات جمعیت باکتریهای اسید لاکتیک بر حسب (log10 CFU/g) در نمونه گوشت پوشش داده شده



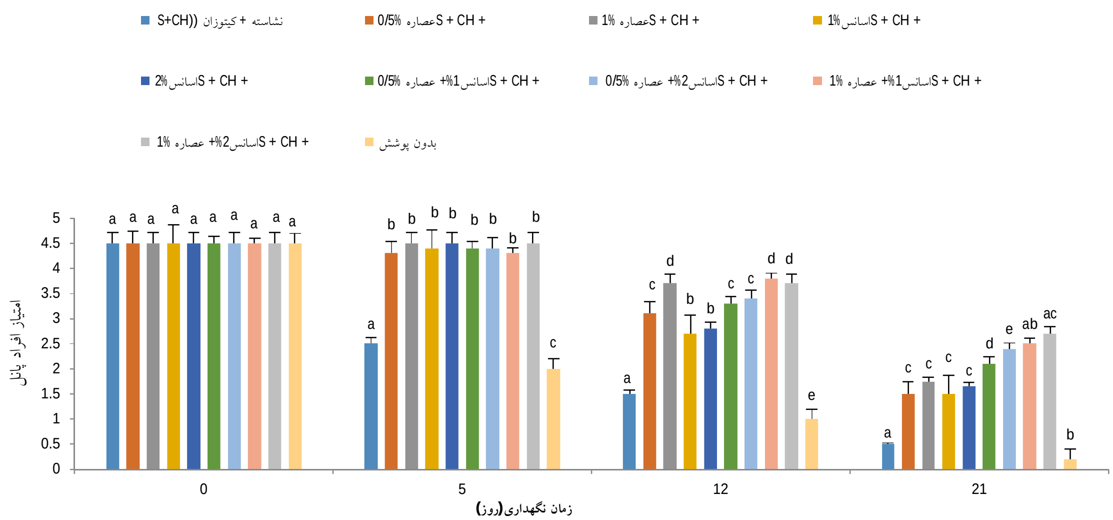
شکل 3- تغییرات جمعیت باکتری سودوموناس بر حسب (log10 CFU/g) در نمونه گوشت پوشش داده شده



شکل 4- میزان تغییرات pH در نمونه گوشت پوشش داده شده توسط فیلم کیتوزان - نشاسته

نتایج ارزیابی میزان اکسیداسیون که به شکل میلی‌گرم مالون آلدئید در هر کیلوگرم گوشت بیان می‌گردد، در جدول 1 آورده شده است. نتایج نشادن داد که استفاده از فیلم کامپوزیت خالی و یا حاوی عصاره و اسانس اثرات معنی‌داری در روزهای مختلف بر روی میزان اکسیداسیون گوشت دارد ($p<0/05$). در بین تمام تیمارهای مختلف تیمارهای حاوی عصاره نیم و یک درصد بیشترین ممانعت را از تشکیل مالون آلدهید داشتند و بیشترین میزان اکسیداسیون نیز در نمونه بدون پوشش و کنترل بدون عصاره مشاهده گردید. نتایج ارزیابی میزان اکسیداسیون نشان داد که استفاده از فیلم کامپوزیت خالی و یا حاوی عصاره و اسانس اثرات معنی‌داری در روزهای مختلف بر روی میزان اکسیداسیون گوشت دارد ($p<0/05$). در بین تمام تیمارهای مختلف تیمارهای حاوی عصاره نیم و یک درصد بیشترین ممانعت را از تشکیل مالون آلدهید داشتند و بیشترین میزان اکسیداسیون نیز در نمونه بدون پوشش و کنترل بدون عصاره مشاهده گردید. در تیمارهای حاوی اسانس نیز میزان تشکیل مالون آلدهید حتی در روز صفر آزمون اختلاف معناداری با سایر تیمارها و کنترل

داشت که علت آن می‌تواند بـه علـت تولیـد ترکیبـاتی باشـد کـه در اسانس‌ها موجود بوده و موجب تشکیل ترکیبات رنگـی شـبیه مـالون آلدهید می‌گردد. نتایج مشابهی توسط هـایس و همکـاران (2010) و درنمونه‌های گوشت پوشش داده شده با عصاره برگ زیتون، سزامول، لوتئین و الاژیک اسید و نیز ها و همکاران (2001) در کنترل میـزان اکسیداسیون و تشکیل مالون آدهید گـزارش گردیـده اسـت. در یـک تحقیق دیگر توسط نرین و همکاران (2006) که از آنتی اکسیدان‌های طبیعی در قالب پوشش‌های بسته‌بندی بـرای پوشـش‌دهـی گوشـت استفاده کرده بودند، نمونـه کنتـرل بـدون پوشـش در پایـان روز 14 نگهداری به 2/74 میلی‌گرم مالون آلدهید در کیلوگرم گوشت رسید در حالیکه این میزان در سایر نمونه‌ها 1/5 میلی‌گرم بود که باعث کاهش 43 درصدی در میزان تشکیل مالون آلدهید گردید.



شکل 4- ارزیابی حسی(رنگ) نمونه‌های گوشت پوشش داده شده توسط فیلم حاوی عصاره الکلی پوست انار و اسانس روغنی کاکوتی، نگهداری شده در دمای 4 درجه سانتی‌گراد . حروف غیر مشابه در هر روز نشان دهنده اختلاف معنی دار (p<0/05).

در شکل‌های 5 ،6 و 7 نتایج ارزیابی حسی گوشت پوشـش‌دهـی شده با فیلم کامپوزیتی حاوی اسانس کاکوتی و عصاره پوست انـار از لحاظ رنگ، بو و ظاهری کلی آورده شده است. به‌طور کلی استفاده از فیلم‌ها اثرات معنی‌داری بر روی نمونه‌ها نشان داد. به‌طوریکه در مورد رنگ فیلم‌های حاوی عصاره و اسانس در روزهای مختلف به جز روز صفر، اختلاف معنی‌داری با نمونه بدون پوشش و فیلم بدون عصاره و اسانس نشان داد (p<0/05). در روز 5 نیز فیلم‌های حاوی عصـاره و اسانس اختلاف معنی‌داری از نظر رنگ با نمونه‌های بدون پوشـش و کنترل داشتند. در روز 21 علاوه براین بین تیمارهای حاوی اسانس و عصاره با فیلم‌های کنترل اخـتلاف معنـی‌دار مشـاهده گردیـد، بـین تیمارهای ترکیبی حاوی اسانس و عصاره توام با نمونـه‌هـای حـاوی عصاره تنها نیز اختلاف معنی‌دار مشاهده گردید (p<0/05).

از نظر بو نیز در روز صفر نمونه‌های حـاوی عصـاره 1 درصـد و اسانس امتیاز پایینی نسبت به گروه کنترل و بدون پوشـش داشـتند. ولی به مرور زمان و در روزهای بعدی امتیاز نمونه‌های حاوی اسانس و عصاره کمتر کاهش یافته و در مقابل از امتیـاز نمونـه‌هـای بـدون پوشش و بدون اسانس و عصاره کاسته گردید و بـین آنهـا اخـتلاف معنی‌دار از این نظر مشـاهده گردیـد (p<0/05) (شـکل 5). در مـورد مقبولیت ظاهری مانند وجود اگزودا در روزهای صـفر و 5 تیمارهـای حاوی عصاره و اسانس اخـتلاف معنـی‌داری بـا نمونـه‌هـای کنتـرل نداشتند ولی در روزهای 12 و 21 بـین تیمارهـای حـاوی اسـانس و عصاره و نمونه‌های کنتـرل اخـتلاف معنـی‌داری مشـاهده گردیـد و همچنین نمونه گوشت حاوی پوشش بـا نمونـه بـدون پوشـش نیـز اختلاف معنی‌داری داشتند (p<0/05) (شکل 6).

متاسفانه مطالعات زیادی در زمینه اثرات فیلم‌هـای ضـدمیکروبی حاوی عصاره و اسانس بر روی خصوصیات حسی مواد غذایی صورت نپذیرفته است. در یکی از این مطالعات، چی و همکاران (2006) تاثیر فیلم کیتوزان با وزن مولکولی متوسط حاوی اسانس پونه را بـر روی ویژگی‌های حسی بلونا در چهار درجه سانتی‌گراد را ارزیابی نمودنـد و نشان دادند که اسانس در غلظت 45 ppm از لحاظ حسی مورد قبول بود.

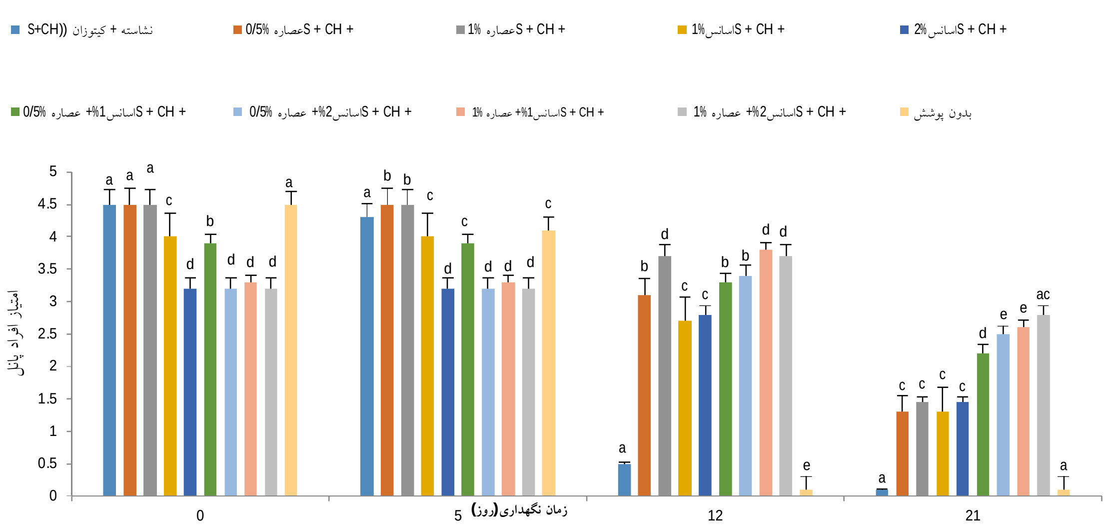
مطالعه نرین و همکاران(2006) نیـز نشـان داد کـه نمونـه‌هـای گوشت استیک گاو پوشش‌دهی شده با آنتی‌اکسیدان‌هـای طبیعـی از لحاظ تغییرات رنگی در روز 14 غیر قابل قبـول تلقـی مـی‌شـدند در

حالیکه نمونه های کنترل در روز 12 به این حالت مـی‌رسیدند کـه نشان می‌دهد حدود 2 روز به عمر نگهداری آنهـا افـزوده شـده بـود. تحقیق هایس و همکاران (2010) و بـانون و همکـارن (2010) نیـز نشان داد که از لحاظ ارزیابی‌های حسی اضافه نمودن ترکیبات فعال و اسانس‌ها به نمونه‌های گوشت هیچ تاثیر منفی در ویژگی‌های حسـی نمونه در مقایسه با کنترل نداشت. نتایج ارزیابی حسی مطالعه‌ای کـه در نمونه‌های گوشت بسته‌بندی شده در شرایط مختلـف اتمسـفری و نیز با اضافه نمودن اسانس پونه کوهی انجام گرفت، مشخص کرد که تیمارهای حاوی اسانس در تمام تیمارهـای بسـته‌بنـدی در دماهـای مختلف نسبت به گروه کنترل عمر نگهداری طـولانی تـری داشـتند (Nychas&Skandamis.,2002). در تحقیق حاضر مشاهده گردید که تیمارهای حـاوی اسـانس و عصـاره مقبولیـت کلـی بیشـتری در مقایسه با نمونه‌های کنترل داشتند.

جدول 1- تغییرات TBA در نمونه گوشت پوشش داده شده توسط فیلم کیتوزان- نشاسته حاوی عصاره الکلی پوست انار و اسانس روغنی کاکوتی، نگهداری شده در دمای 4 درجه سانتی‌گراد و روزهای مختلف.بر حسب میلی‌گرم مالون آلدهید در هر کیلوگرم نمونه

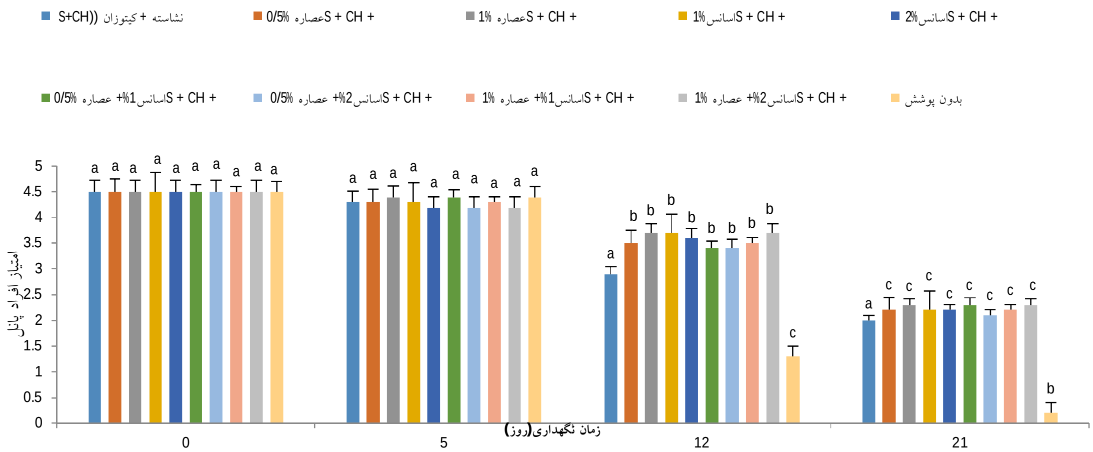
نوع فیلم	روزهای نگهداری						
	صفر	۲	۵	۹	۱۳	۱۷	۲۲
بدون پوشش	۱/۰۱±۰/۱۵[a]	۱/۲۰±۰/۰۹[b]	۱/۶۱±۰/۰۶[d]	۲/۰۱±۰/۰۶[e]	۲/۴۱±۰/۰۹[ad]	۲/۷۸±۰/۱[ad]	۲/۹۰±۰/۰۶[ad]
نشاسته + کیتوزان (S+CH)	۱/۰۱±۰/۱۵[a]	۱/۱۱±۰/۰۳[b]	۱/۵۳±۰/۰۵[d]	۱/۷۶±۰/۰۵[d]	۱/۹۶±۰/۰۸[ab]	۲/۰۴±۰/۰۴[e]	۲/۵۴±۰/۰۹[ab]
عصاره ٪۰/۵+ S + CH	۱/۰۱±۰/۱۵[a]	۱/۰۳±۰/۰۴[a]	۱/۰۷±۰/۰۲[b]	۱/۲۲±۰/۰۶[b]	۱/۳۰±۰/۰۷[b]	۱/۳۹±۰/۰۷[b]	۱/۴۱±۰/۰۹[b]
عصاره ٪۱+ S + CH	۱/۰۱±۰/۱۵[a]	۱/۰۲±۰/۰۵[a]	۱/۰۴±۰/۰۲[a]	۱/۰۷±۰/۰۳[a]	۱/۰۳±۰/۰۵[a]	۱/۰۹±۰/۰۷[a]	۱/۱۱±۰/۰۹[a]
اسانس٪۱+ S + CH	۱/۷۸±۰/۰۸[b]	۱/۸۰±۰/۰۷[c]	۱/۸۲±۰/۰۷[e]	۱/۸۲±۰/۰۸[d]	۲/۰۳±۰/۰۷[ab]	۲/۱۵±۰/۰۶[ab]	۲/۲۶±۰/۰۶[e]
اسانس٪۲+ S + CH	۲/۲۲±۰/۱۹[c]	۲/۲۲±۰/۰۹[ab]	۲/۲۸±۰/۰۷[ac]	۲/۲۶±۰/۱۱[ab]	۲/۴۱±۰/۱۲[ad]	۲/۶۴±۰/۱۲[ad]	۲/۷۸±۰/۰۸[ac]
اسانس ٪۱+ عصاره ٪۰/۵+S + CH	۱/۷۶±۰/۰۹[b]	۱/۷۶±۰/۰۶[d]	۱/۷۸±۰/۰۶[e]	۱/۸۲±۰/۰۸[d]	۱/۸۵±۰/۰۳[e]	۱/۹۲±۰/۰۹[c]	۱/۹۳±۰/۰۷[d]
اسانس ٪۲+ عصاره ٪۰/۵+ S + CH	۱/۹۹±۰/۰۶[ab]	۲/۰۰±۰/۱۱[e]	۲/۰۶±۰/۱[ab]	۲/۰۴±۰/۰۴[e]	۲/۱۹±۰/۰۶[ac]	۲/۲۹±۰/۰۲[ac]	۲/۳۱±۰/۰۳[e]
اسانس ٪۱+ عصاره ٪۱+ S + CH	۱/۴۴±۰/۰۷[ac]	۱/۴۵±۰/۱۶[c]	۱/۴۳±۰/۰۸[c]	۱/۵۱±۰/۰۹[c]	۱/۵۵±۰/۰۹[c]	۱/۵۷±۰/۰۶[b]	۱/۵۸±۰/۰۵[c]
اسانس ٪۲+ عصاره ٪۱+ S + CH	۱/۵۷±۰/۰۳[ad]	۱/۵۷±۰/۰۸[c]	۱/۵۶±۰/۰۴[d]	۱/۶۹±۰/۰۸[d]	۱/۷۴±۰/۰۶[d]	۱/۸۳±۰/۰۵[c]	۱/۸۸±۰/۰۴[d]

* میانگینها با حروف غیر مشابه در یک ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار است ($p<۰/۰۵$)



شکل 6- ارزیابی حسی(بو) نمونه های گوشت پوشش داده شده توسط فیلم حاوی عصاره الکلی پوست انار و اسانس روغنی کاکوتی، نگهداری

شده در دمای 4 درجه سانتیگراد . حروف غیر مشابه در هر روز نشان دهنده اختلاف معنی دار است (p<0/05).



شکل 7- ارزیابی حسی(ظاهرکلی و اگزودا) نمونه های گوشت پوشش داده شده توسط فیلم کیتوزان - نشاسته حاوی عصاره الکلی پوست انار و اسانس روغنی کاکوتی، نگهداری شده در دمای 4 درجه سانتیگراد . حروف غیر مشابه در هر روز نشان دهنده اختلاف معنی دار است (p<0/05).

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که فیلم کامپوزیتی خوراکی نشاسته- کیتوزان حاوی اسانس کاکوتی و عصاره پوست انار به‌طور معنـاداری فساد در گوشت را به تعویق می‌اندازد و موجب افزایش عمر نگهداری آن می‌گردد. بنابراین با تحقیقات بیشتر و بررسی سایر جنبه‌های فیلم خوراکی تولید شده می توان از آن در بسته‌بندی گوشت استفاده نمود.

منابع:

مهربان آتش، معصومه.، کاراژیان رضا.، بیرقی طوسی شهرام. (1385) مطالعه اثر ضد میکروبی روغن فرار کاکوتی کوهی بر باکتریهـای مولـد فساد و بیماریزای مواد غذایی.. فصلنامه گیاهان داروئی، 23، 46-51.

Ahvenainen, R, 2003, Novel food packaging techniques. In: Ahvenainen R. Editors. Active and intelligent packaging: an introduction. Cambridge, UK*: Woodhead Publishing* Ltd, 5–21.

Al-Zoreky N.S., 2009. Antimicrobial activity of pomegranate (*Punicagranatum* L.) fruit peels. *International Journal of Food Microbiology*, 134, 244–248.

Amiri, H., 2012, Essential Oils Composition and Antioxidant Properties of Three *Thymus* Species Evidence-Based *Complementary and Alternative Medicine*.

Brannan, R., 2008, Effect of grape seed extract on physicochemical properties of ground, salted, chicken thigh meat during refrigerated storage at different relative humidity levels. *Journal of Food Science*. *73*, C36–C40.

Coma, V., Sebti, I., Pardon, P., Deschamps, A. & Pichavant, F.H., 2001, Antimicrobial edible packaging based on cellulosic ethers, fatty acids, andnisin incorporation to inhibit Listeria innocua and Staphylococcus aureus. *Journal of Food Protection*, 64, 470-475.

Djenane, D., Sa´nchez Escalante, A., Beltra´n, J. A. & Roncale´s, P., 2003, Extension of the shelf life of beef steaks packaged in a modifiedatmosphere by treatment with rosemary and displayed under UV free lighting, *Meat Science*, 64, 417-426.

Dobias, J., Chudackova, K., Voldrich, M. & Marek, M., 2000, Properties ofpolyethylene films with incorporated benzoic anhydride and/or ethyl andpropyl esters of 4-hydroxybenzoic acid and their suitability for foodpackaging. *Food additives & contaminants*, 17, 1047-1053.

Emirog˘lua. Z.K., Yemis¸b GP. Cos¸kunc BK. & Candog˘anb, K., 2010, Antimicrobial activity of soy edible films incorporated with thyme and oregano essential oils on fresh ground beef patties, *Meat Science*, 86,283–288.

Fatehi-Hassanabad, Z., Jafarzadeh, M., Tarhini, A. & Fatehi, M., 2005, The antihypertensive and vasodilator effects of aqueous extract from Berberis vulgaris fruit on hypertensive rats, *Phytotherapy research*, 19:222–225.

Gomez-Estaca, J., Gimenez, B., Montero, P. & Gomez-Guillen, M.C., 2009. Incorporation of antioxidante borage extract into edible Films based on sole skin gelatin or a commercial fish gelatin, *Journal of Food Engineering*, 92(1):78–85.

Hashemi, M., Ehsani, A., Hosseini Jazani N, Aliakbarlu, J., & Mahmoudi R., 2013, Chemical composition and *in vitro* antibacterial activity of essential oil and methanol extract of *Echinophora platyloba* DC against some of food-borne pathogenic bacteria. *Veterinary Research Forum*, *4*, 123–127.

Huang, T.H.W., Penga, G., Kota, B.P., Li, G.Q., Yamahara J., Roufogalis, B.D. & Li, Y., 2005. Anti-diabetic action of *Punicagranatum L.* flower extract: Activation of PPAR-g and identification of an active component, *Toxicology and Applied Pharmacology,* 207, 160-169.

Kalemba, D. & Kunicka, A., 2003, Antibacterial and antifungal properties of essential oils, *Current Medicinal Chemistry*, 10, 813-829.

Lansky, E.P. & Newman, R., 2007, *Punicagranatum* (pomegranate) and its potential forprevention and treatment of inflammation and cancer, *Journal of Ethnopharmacology*, 109(2): 177-206.

Li Y., Guo, C., Yang, J., We, J. & Xu, J., 2006, Cheng S. Evaluation of antioxidant properties ofpomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract, *Food Chemistry*, 96, 254–260.

Marandi, J. R. ., Hassani, A., Ghosta, Y, Abdollahi, A., Pirzad, A. & Sefidkon F., 2011, Control of *Penicilliumexpansum* and *Botrytis cinerea* on pear with *Thymus kotschyanus*, *Ocimumbasilicum* and *Rosmarinusofficinalis* essential oils, *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(4):626-634.

Martos, M.V., López, J.F. & Álvarez, J.A.P., 2010, Pomegranate and its Many Functional Components as Related to Human Health: A Review .*Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9(6): 635–654.

Nerin, C., Tovar, L., Djenane, D., Camo. J. J.S., Beltraan, J.A. & Roncalea, P., 2006, Stabilization of Beef Meat by a New Active Packaging Containing Natural Antioxidants, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 7840-7846.

Ouattara, B., Simard, R.E., Piette, G., Begin, A. & Holley, R.A., 2000, Diffusion of acetic and propionic acids from chitosan-based antimicrobial packaging films, *Journal of Food Science*, 65, 768-773.

Ozdemir, M. & Floros, J.D., 2004. Active Food Packaging Technologies. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44(3): 185–193.

Rinaudo, M., 2006, Chitin and chitosan: Properties and applications. *Progress in Polymer Science*, 31(7):603-632.

Rodrigues, E.T. & Han J.H., 2000, Antimicrobial whey protein films againstspoilage and pathogenic bscteria. Proceeding of the IFT Annual Meeting; Dallas, Texas; June 10-14. Chicago Illinoid, *Institute of food Technologist*. P191.

Schuenzel, K.M. & Harrison, M.A., 2002, Microbial antagonists of foodborne pathogens on fresh minimally processed vegetables, *Journal of Food Protection*, 65, 1909-1915.

Solomakos, N., Govaris, A., Koidis, P. & Botsoglou, N., 2008, the antimicrobial effect of thyme essential oil, nisin and their combination against *Escherichia coli O157:H7* in minced beef during refrigerated storage, Meat Science, 80, 159–166.

Suppakul, P., Miltz, J., Sonneveld, K. & Bigger, S.W., 2002, Preliminary studyof antimicrobial films containing the principal constituents of basil. WorldConference on Packaging: Proceeding of the 13th Intl. Assoc. of PackagingRes. Inst., Michigan State Univ., East Lansing, Michigan, June 23-23. CRCPress LLc., Florida, USA. p. 834-839.

Thakur, B. R. & Singh, R. K., 1994, Food irradiations Chemistry and applications. *Food Research International,* 10, 437- 473.

Thangavelu, R., Sundararaju, P. & Sathiamoorthy, S., 2004, Management of anthracnose disease of banana caused by Colletotrichummusae using plant extracts, *Journal of Horticultural Science and Biotechnology,* 79, 664-668.

Vermeiren, L., Devlieghere, F. & Debvere, J., 2002, Effectiveness of some recentantimicrobial packaging concepts, *Food additives & contaminants*, 19, 163-171.

Xu Y.X, Kim K.M, Hanna M.A. & Nag D., 2005. Chitosan–starch composite film: preparation and characterization, Industrial Crops and Products, 21(2), 185-192.

Zinoviadou, K.G., Koutsoumanis, K.P. & BiliaderisC.G., 2009, Physico-chemical properties of whey protein isolates films containingoregano oil and theirantimicrobial action againstspoilage flora of fresh beef, *Meat Science*, 82:338–345.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 14, No. 2, June. July. 2018, p. 371- 382

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 14، شماره 2، خرداد- تیر 1397 ص382 -371

The effect of active and edible starch-chitosan composite film incorporated with thymus kotschyanus essential oil and punica granatum peel extracts on shelf life of meat during storage

T. Mehdizadeh[3*], H. Tajik[1], A.Mojaddar Langroodi[1]

Received: 2016.12.25
Accepted: 2017.05.20

Introduction: Meat is sensitive to microbial spoilage and chemical oxidation, so it is favorable to use a natural preservative with antioxidant and antimicrobial effects. The objective of this study was to prepare composite films from chitosan and starch containing pomegranate peel extract (PPE) and *Thymus kotschyanus* EO alone and in combination to evaluate their effects on shelf-life characteristics, including physico-chemical (pH, aw and lipid oxidation), sensorial (color, odor and general appearance) and microbial (lactic acid bacteria, aerobic mesophiles, pseudomonas) on meat at 4°C for 21 days.

Materials and methods: Fresh pomegranate fruits (*Punica granatum*) were purchased from a local hypermarket. After separation, the peels were washed and dried. Thus 700 ml alcohol and 300 ml distilled water were added to 250g of powdered peel. The mixture was left in a shaker for 24 hr. After cooling and filtration using a paper filter, the solvent was removed in a rotary evaporator and the extract was stored at 4 °C until use. The *Thymus kotschyanus* was purchased a local market in Urmia. Hydrodistilation of dried parts of plant was performed in a Clevenger-type apparatus for 3 hr. Sodium sulfate was used for dehydration of the oil, then oil was filtered using 0.22 μm filters and stored in colored glass tubes in the dark at refrigerated temperature. Chitosan film solution was prepared by dissolving 1.5% (w/v) of chitosan in 1% (v/v) of glacial acetic acid solution with constant agitation using a magnetic stir plate during 24 h at room temperature. As a plasticizer, glycerol was added in the proportion of 30% (w/w) to chitosan powder, and the system was agitated for 5 min to complete homogenization. Starch solutions with concentrations of 3.5 % (w/v) were prepared by dispersing 27% amylose corn starch (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim ,Germany) in distilled water and heating the mixtures on hotplates 95 ˚C during 30 min with stirring until it gelatinized, and then cooling to 40 ˚C. Composite films were prepared by mixing 100 mL of 2% chitosan solution with 100 mL of 3.5% starch solutions. For the films incorporated with the essential oils, tween 80 at a level of 0.2% w/v of essential oil was used as emulsifier. EO or hydro-alcoholic extracts were incorporated to the system at the level of 1% (v/v) of film form solution and homogenized in magnetic stir plate during more 5 min at room temperature. For microbial tests ten grams of each sample was diluted in 90 ml sterile 0.1 % ml peptone water (Merck, Darmstadt, Germany) and homogenized using shaker for 3 min at room temperature. Then, 0.1 mL of serial dilutions (0.1 % peptone water) of beef meat homogenates were transferred to agar plates. Pseudomonas were counted on Pseudomonas agar supplemented with CFC at 25 °C for 48 h (CFC, Merck, Darmstadt, Germany). Lactobacillus were enumerated on MRS agar (Merck, Darmstadt, Germany, Oxoid) incubated at 30 °C for 48 h. Finally, total mesophilic counts were determined using Plate Count Agar (PCA, Merck, Darmstadt, Germany), after kept for 2 days at 30°C. Level of lipid oxidation was investigated using thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) method as described by Pikul et al (1989). Ten grams of sample was homogenized with 1 mL BHT (1 mg/mL) and 35 mL trichloroacetic acid (5%) in a blender. The mixture was filtered using Whatman no 1. Five mL TBA solution (0.02 M) of filtrate solution was added to 5 mL of filtrate solution and kept in a water bath at 100°C for 60 min to expand the malondialdehyde–TBA complex. After cooling the tube, the absorbance of the samples were determined at 532 nm. The pH values were determined using a digital pH meter. A 5 g of beef meat sample containing 25 ml of distilled water was homogenized for up to 1 min. The sensory analysis of meat samples was carried out with 10 trained PhD students. After preparation of treatments, the samples were offered to each

1. Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran
(*Corresponding author. Email: T.Mehdizadeh@Urmia.ac.ir)

panelist separately. Fresh beef meat was used as a control. Panelists were asked to evaluate texture, color, flavor and odor and overall acceptance on a nine-point Hedonic scale, with 9 being so good and 1 being so poor.

Results and discussion: The incorporation of PPE and EO into composite film showed that aerobic mesophiles and lactic acid bacteria were the most sensitive and resistant groups to films by 7.11 and 6.92 log cycles reduction after 21 days' storage, respectively. In addition, meat wrapped by 1% PPE films had the lowest degrees of lipid oxidation (1.11 mg MDA/kg samples) which was 61% lower than the control samples (2.90 mg MDA/kg samples). This study showed that starch-chitosan composite films containing of pomegranate peel extract and *Thymus kotschyanus* EO was significantly antibacterial properties, while shows the higher antioxidant effect. PPE also improves some physical properties of the film. Our results indicated that incorporation of pomegranate peel extract (PPE) and *Thymus kotschyanus* EO as a natural antibacterial agents have a potential to prolong the shelf-life of meat.

Keywords: composite film, chitosan- starch, *Thymus kotschyanus, Punica granatum*, shelf life, meat